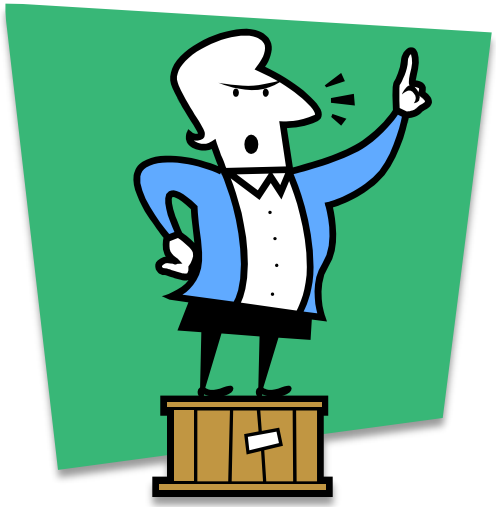
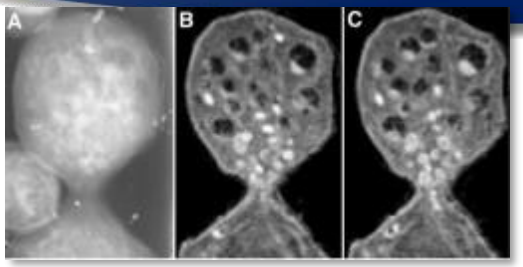
Thema der Vorlesung

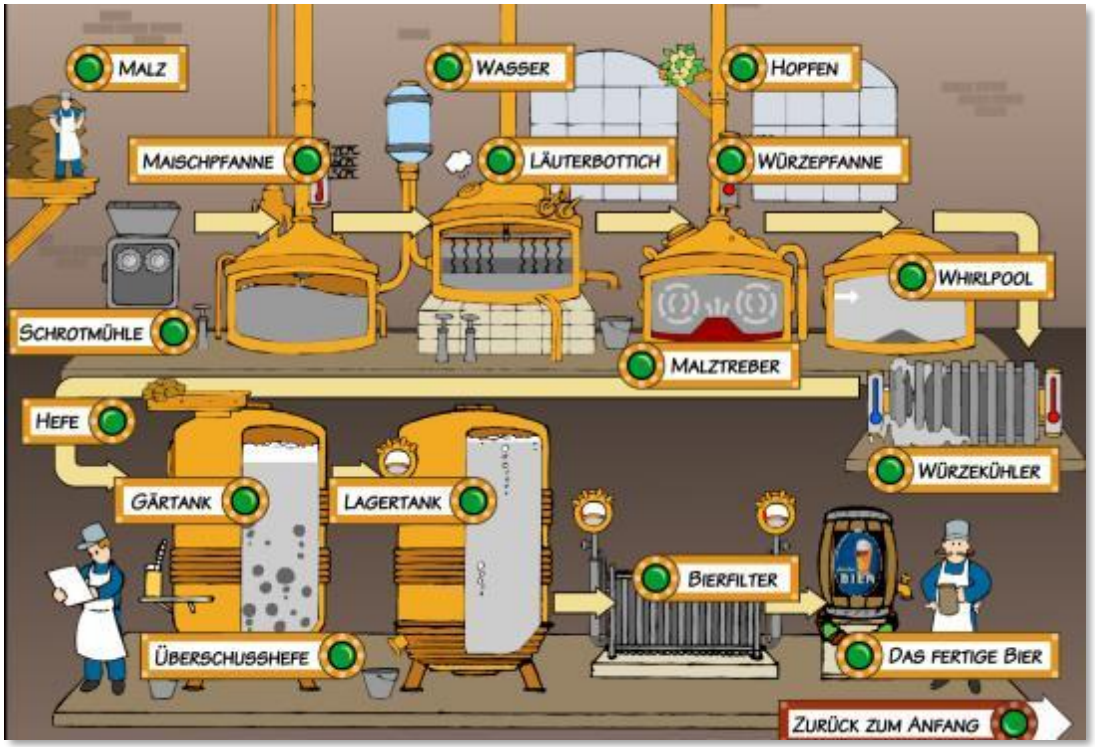
Biotechnologie mit Mikroorganismen





Saccharomyces cerevisiae

1 L Maß Bier
10 Mrd. Hefezellen
1,3 L Brauwasser
180g Gerste
1,8 g Hopfen



Biotechnologie in der Antike

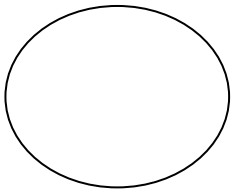
- Die alten Ägypter, Syrer haben Wein mit Hilfe von Hefen produziert
- Zur Wundheilung wurden Pilze verwendet
- Darüber hinaus haben sie auch Hefen für die Herstellung von Brotteigen verwendet
  Vermutlich gab über 50 unterschiedliche Brotsorten im alten Ägypten
- Plus Fermentation von Milch zu Käseprodukten etc…
- Bier/Wein war den alten Ägyptern, den Wikingern und den mittelalterlichen Mönchen schon bekannt!

Jahrgang 1899

Biotechnologie (Gentechnologie?)

Gentechnologie
Veränderung des Erbgutes zur Erlangung eines bestimmten Ziels (Phänotyp)
(Biotechnologie kommt per se auch ohne Gentechnologie aus)

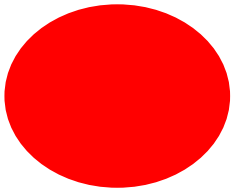
Weiße Biotechnologie



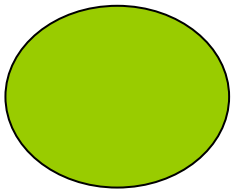
nur funktionale Katalysen – das rekombinante Protein und/oder der GVO sind nicht im Endprodukt enthalten!
Keine Gefahr für Mensch und Umwelt!
Funktionierende Beispiele:
Waschmittel-Lipasen, BlueJeans- Stonewascheffekte,
Glutamatbiosynthese, Vitamine etc.

Besser wäre der Begriff Industrielle Gentechnik
Übergänge zur Pharmazeutikaherstellung fließend

Rote Biotechnologie

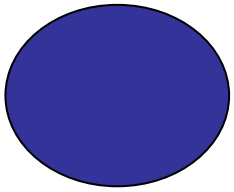


Medizinisch orientierte Gentechnik; Medikamentenherstellung, Therapien



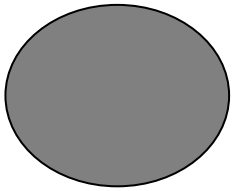
Grüne Biotechnologie

Gentechnologie/Biotechnologie mit dem Ziel Pflanzenerträge zu optimieren oder zur Schädlingsabwehr!
Wird kritisch diskutiert! Abwägung von Interessen:
z.B. Einsatz von cancerogenen Pestiziden vs. gentechnisch veränderter Pflanzen!
Nur Freisetzung problematisch!



Blaue Biotechnologie

Marine Biotechnologie



Graue Biotechnologie

Umweltbiotechnologie;
Oil-spill Clean-up, Kläranlagen; Metallgewinnung

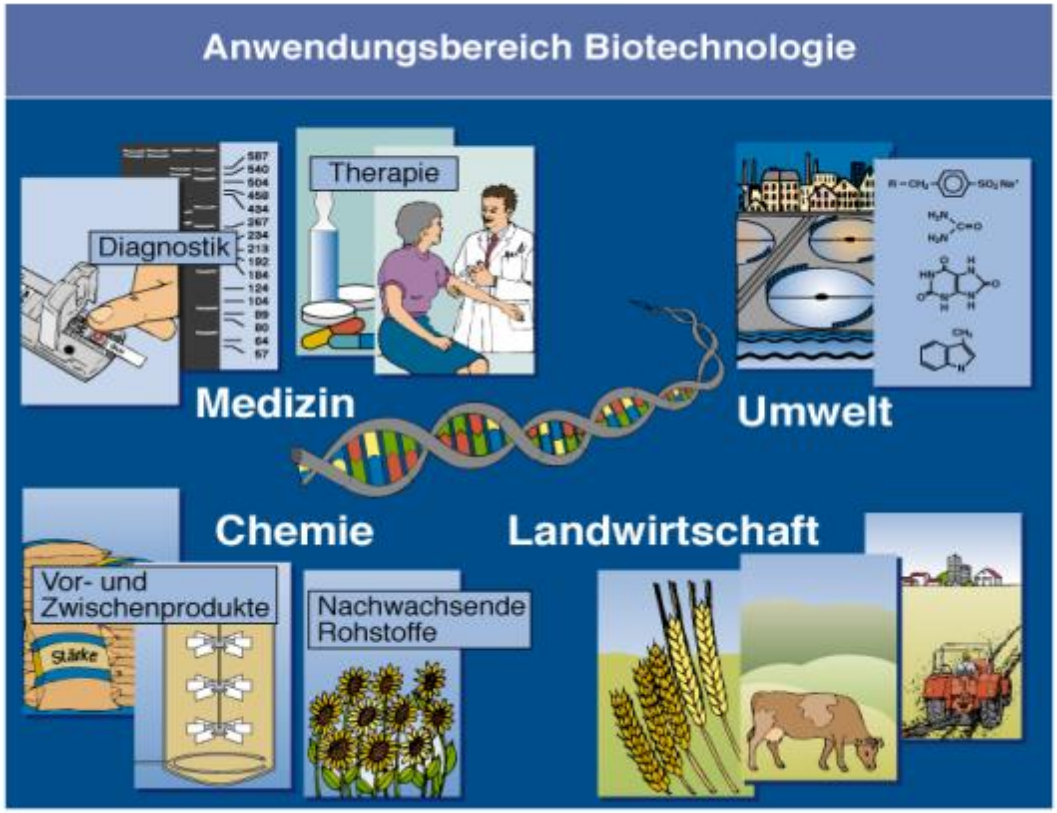
Gute Argumente, die für Biotechnologie sprechen

1. Produkte und Substrate – integrierbar in den natürlichen Stoffkreisläufen
nachwachsende/regenerierbare Rohstoffe
2. Nutzung unreiner, verdünnter und inaktiver Rohstoffe möglich
3. keine aggressive Lösungsmittel erforderlich
4. milde Reaktionsbedingungen (pH, T, Druck)
5. Zellinterne Energieversorgung (ATP im Stoffwechsel gebildet)
6. Rückstände – rezyklierbar, natürlich abbaubar, umweltfreundlich

Dringende Probleme, die gelöst werden müssen

1. niedrigere Effizienz
2. relativ niedrige Konzentration an Reaktanten
3. genetische Instabilität der Biokatalysatoren (MO, Stämme)
4. hohe Komplexität der Bioprozessführung
5. hohe Investition für Ausbildung
6. geringe, bzw. instabile Akzeptanz in der Bevölkerung
7. Prozesse meist an wässrige Phasengebunden!!!

Biotechnologie ist nachhaltig, ressourcenschonend und umweltfreundlich!



Biotechnologie – Anwendung

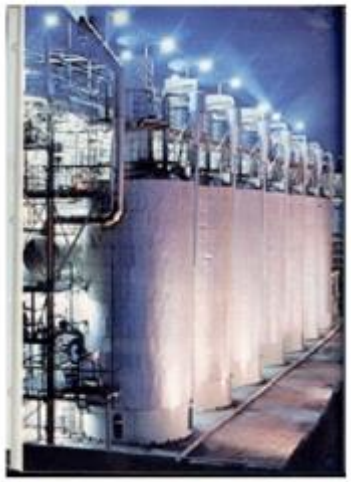
-In our daily Life!

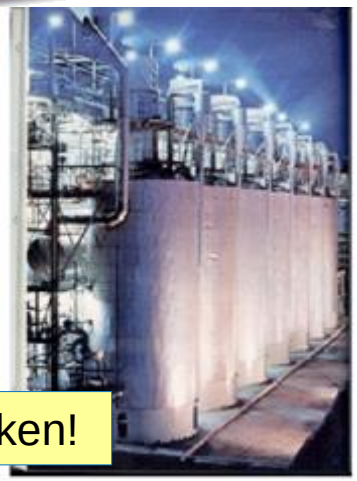
-Umwelt (Cleanup)
-Produktion nachwachsender Rohstoffe
-Nahrungsmittelindustrie
-Textilindustrie
-Pharmazie
-Getränkeindustrie (Bier)
Süßstoffe
-Kosmetika
-detergentien
-Biofuels!!!
-Abwasserbehandlung
-Papierindustrie
-Antibiotika
-Fein- und Bulk-Chemikalien
-Vitamine
-Coatings
-.....

Industrielle Biotechnologie findet sich überall im täglichen Leben

Animation: Novozymes.com

Produkt	T/ a weltweit	€/Kg
L-Glutaminsäure	2.100.000	1-2 Euro pro Kg
Citrat	1.000.000	
L-Lysin	1.300.000	
Lactat	150.000	5-8 Euro pro Kg
Gluconat	100.000	
Vitamin C	80.000	





Produktionsstämme in der Biotechnologie: Hohe Ansprüche Biofabriken!

Genome bekannt
Genetisch zugänglich
Nicht-pathogen
Keine Toxine
Keine Sporen
Keine Phagen
Keine schlechten Gerüche
Wenig Proteaseaktivität

Escherichia coli
E. blattei

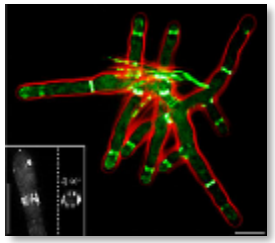
Bacillus licheniformis
B. subtilils
B. amyloliquefaciens

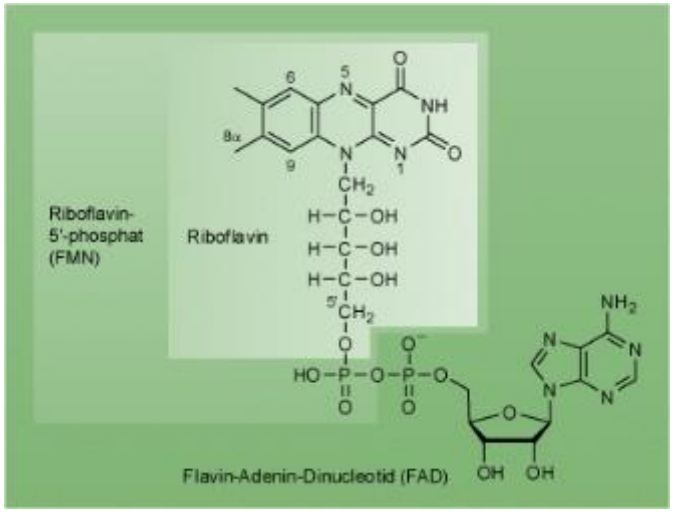
Burkolderia glumae

Corynebakterium glutamicum

Saccharomyces cerevisiae

Ashbya gossypii (Pilz)

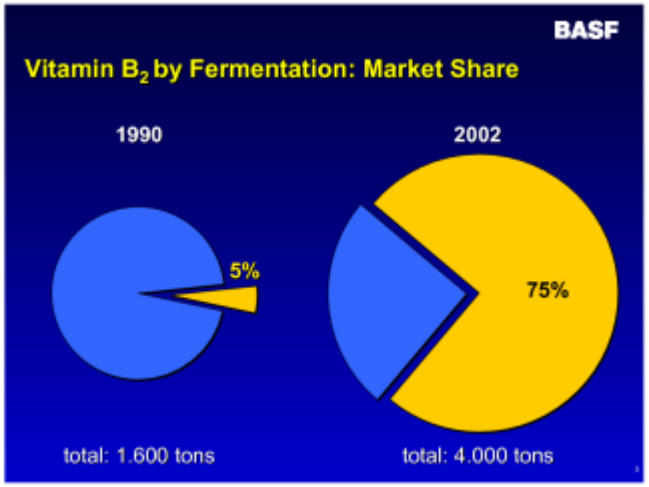




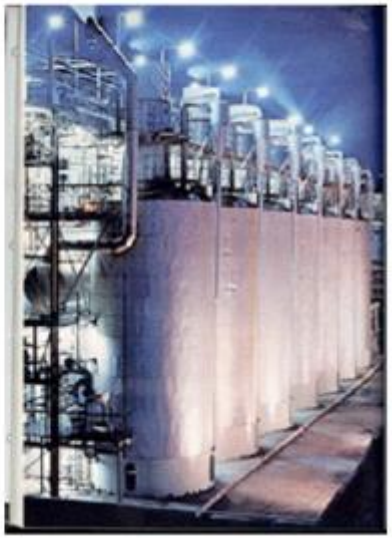
Bacillus subtilis (Bakterium)

Zusatzstoff in vielen Lebensmitteln,
Gelbfärbung aber auch ein essentielles Vitamin,
CoFactor FAD; Dehydrogenasen etc.

Riboflavin:
DSM, Holland,
BASF, Mannheim



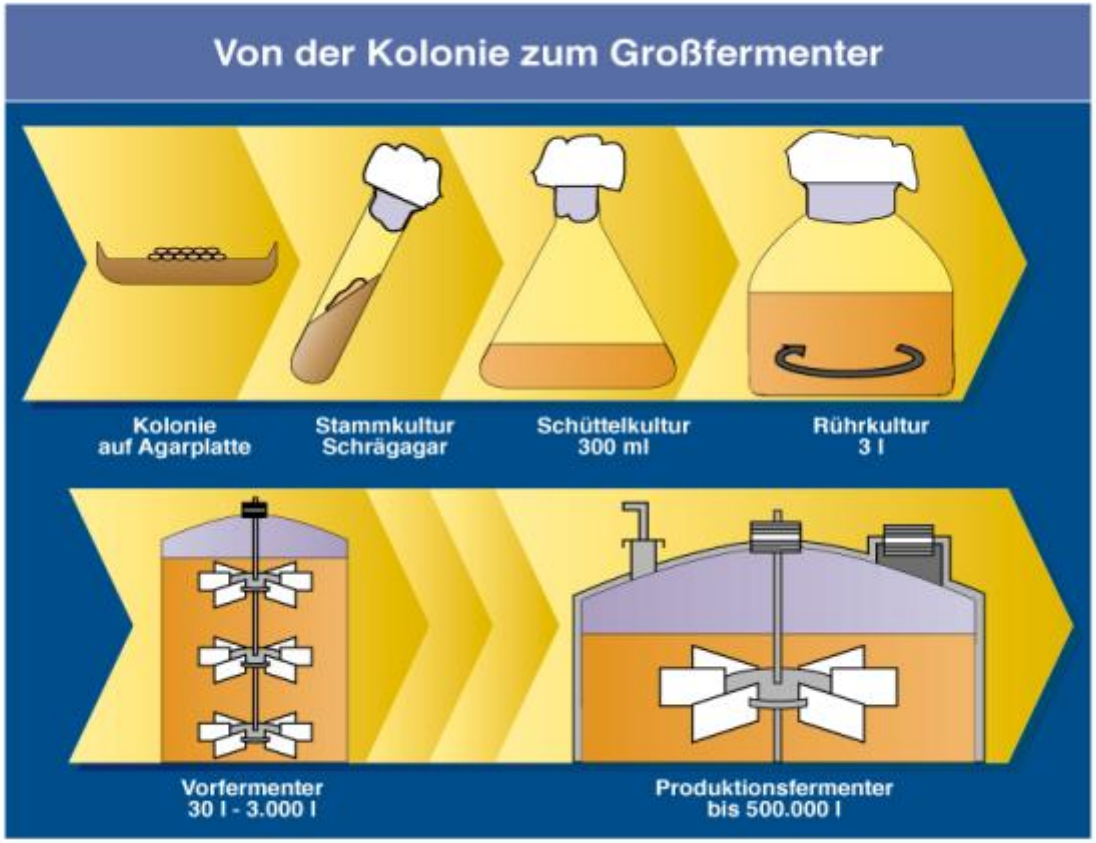
MSG production fermentors. The volume of each is 63,420 gallons and the height is about 100 ft tall. Hofu, Japan.(from http://smccd.net/accounts/case/biol230/indfer.html)



C. glutamicum ATCC 13032
- Gram-positive
- circulares Chromosome
- plasmid
- 3,4 MB Genome

usprüngliches Isolat 1957 in Japan endeckt; als natürlicher Überproduzierer zunächst 1 mg /L überproduziert; heute 100 g/pro Liter und mehr….

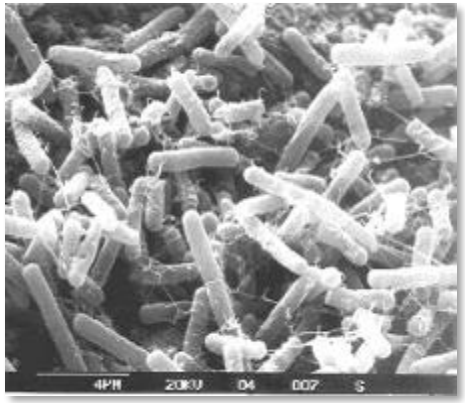
Produzent von einigen Millionen Tonnen Glutamat/pro Jahr aber auch L-lysin wird mit bis zu einer Mio Tonnen produziert



Je größer das Endvolumen, desto mehr upscaling Schritte sind erforderlich

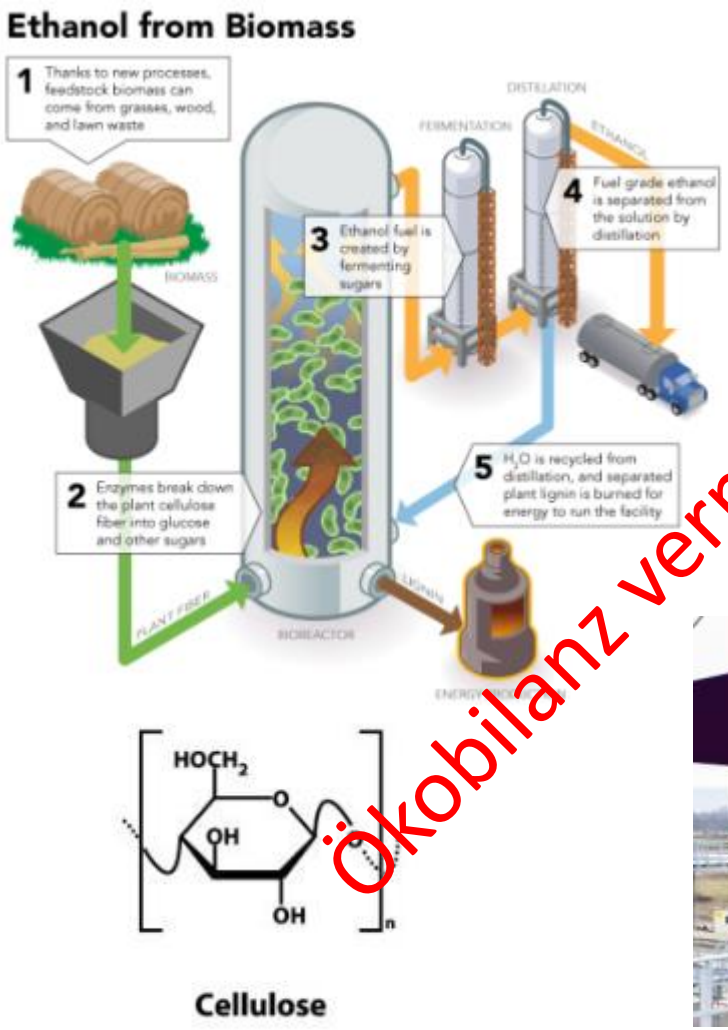
Chaim Weizmann

Am 17. Mai 1948 wurde Weizmann Präsident des Provisorischen Staatsrates.
Am 16. Februar 1949 wählte die verfassungsgebende Versammlung Weizmann zum ersten Präsidenten des Staates Israel



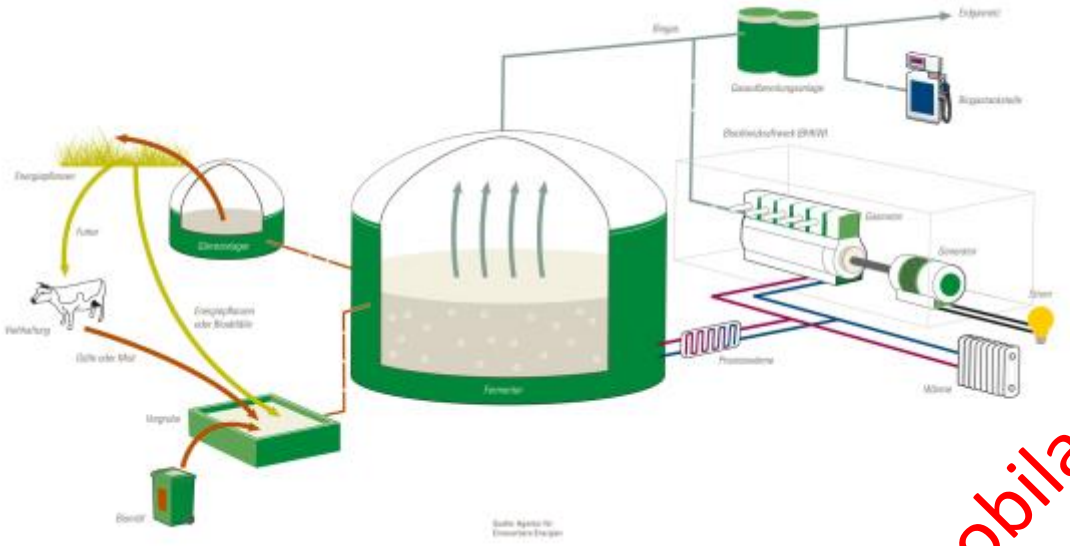
Weizmann studierte Chemie in Darmstadt und entwickelte über lange Jahre die Grundlagen der **Aceton-Butanol Fermentation**.
Butanol war wichtig für die Herstellung von Schießpulver im 1. und 2. Weltkrieg.....
heute wieder, um eine erdölfreie Chemie zu etablieren.

C. acetobutylicum produziert Acteon, Ethanol und Butanol aus Glucose


Ethanol from Biomass
1 Thanks to new processes, feedstock biomass can come from grasses, wood, and lawn waste
2 Enzymes break down the plant cellulose fiber into glucose and other sugars
3 Ethanol fuel is created by fermenting sugars
4 Fuel grade ethanol is separated from the solution by distillation
5 H_2O is recycled from distillation, and separated plant lignin is burned for energy to run the facility
DISTILLATION
FERMENTATION
ETHANOL
BIOMASS
PLANT FIBER
BIOREACTOR
LIGNIN
HOCH2
OH
OH
n
Cellulose

Ökobilanz vermutlich negativ?

A NEW ERA BEGINS
The world's first cellulosic ethanol plant uses Novozymes Cellic® CTec enzymes to produce cellulosic ethanol in commercial quantities
READ PRESS RELEASE



Ökobilanz vermutlich negativ?

Biogasanlagen sind ebenfalls ein Beispiel für mikrobielle Biotechnologie

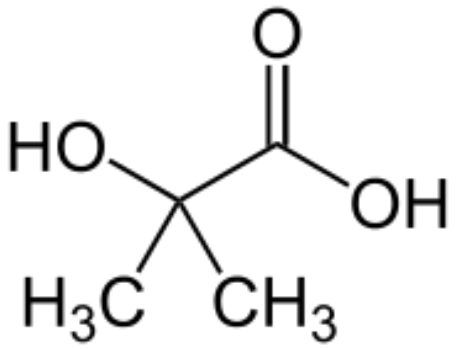
Bio- ‚Methan und Wasserstoff' sind üblicherweise die finalen Produkte, aber auch

Synthesegase (Gasgemische aus Kohlenmonoxid/Kohlendioxd und Wasserstoff)

Ökobilanz vermutlich aber negativ ?

Synthesegas schmeckt Bakterien

2-Hydroxy-Isobuttersäure

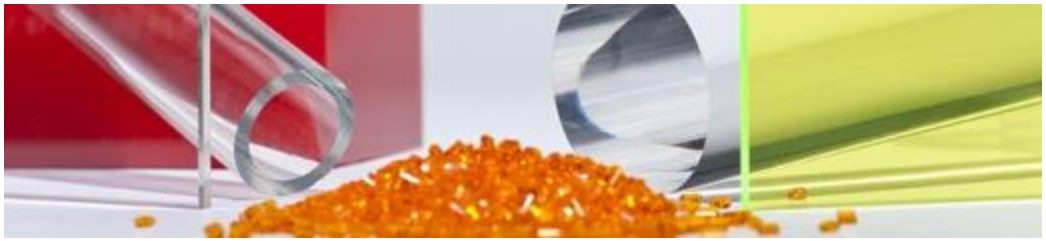


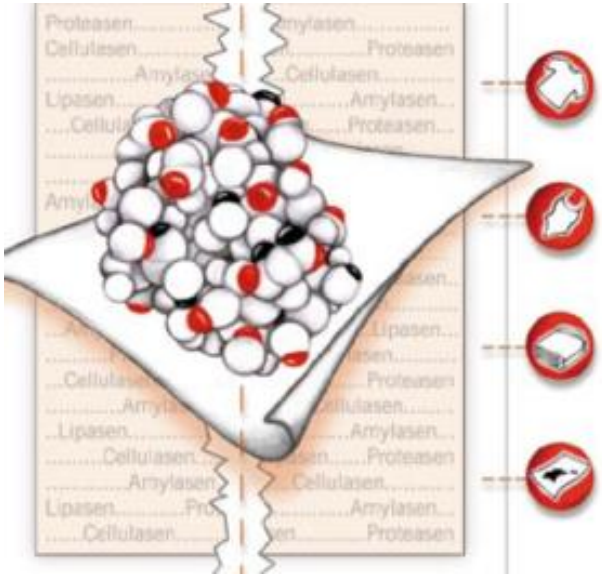
Kann biologisch aus Synthesegas aufgebaut werden.....

.....und kann dann in ‚Plexiglas' landen

EVONIK INDUSTRIES

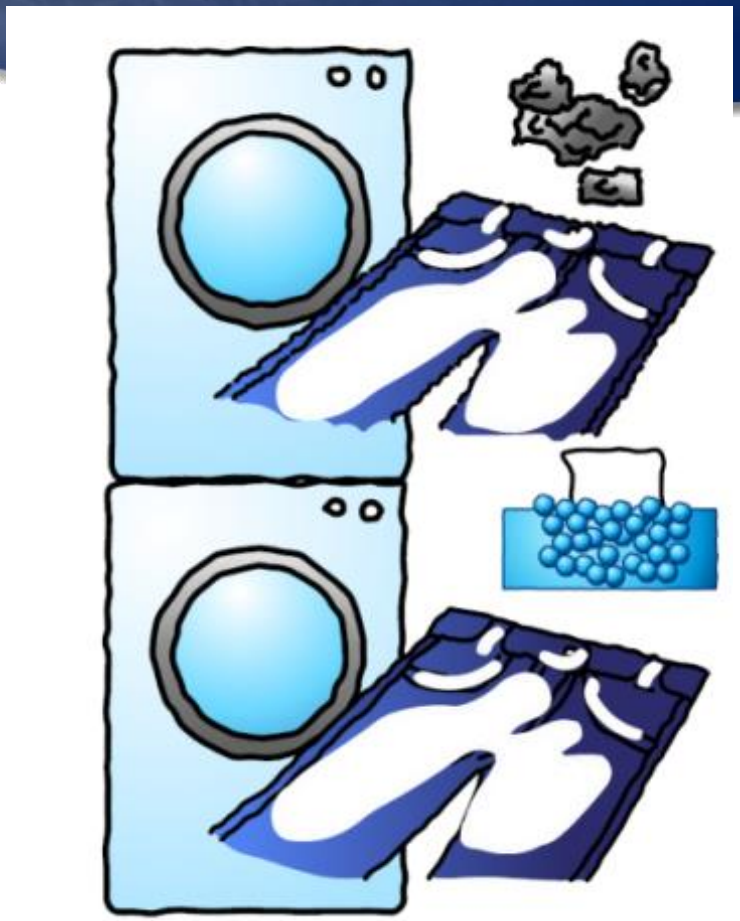
Pressemitteilung
Essen, 4. Dezember 2013





Enzyme	Effekte
Proteasen	Proteine: Ei, Blut, Milch etc.
Lipasen	Fette
Amylasen	Stärke
Cellulasen	Glätten von beschädigten Fasern

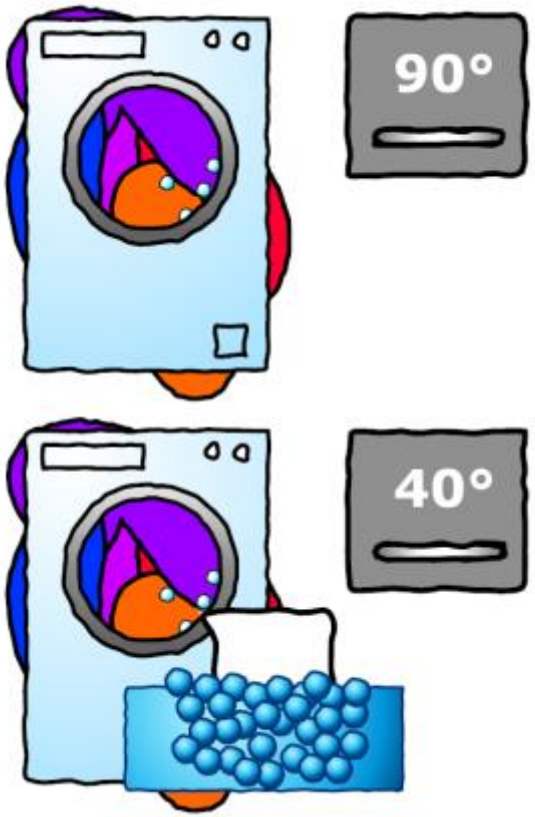
Enzyme in Waschmitteln
Enzyme oft aus diversen *Bacillus* Arten



Klassisches Verfahren mit
Bimsstein hohe Energiekosten etc.

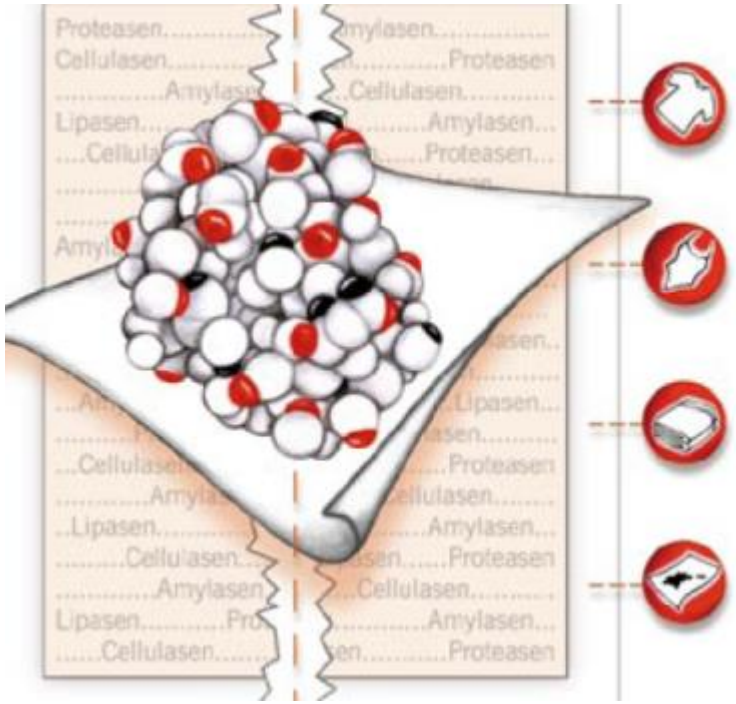
Stonewash-Effekt bei Jeans
mit Hilfe von Cellulasen
und anderen Enzymen

***Bacillus* sp. aus Lake Nakuru in Kenya**
isolated by Genencor, US



Europa

USA



Enzyme in Waschmitteln müssen bei hohen und niedrigen Temperaturen arbeiten

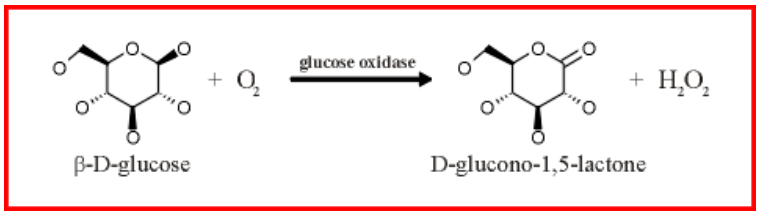
Glucose

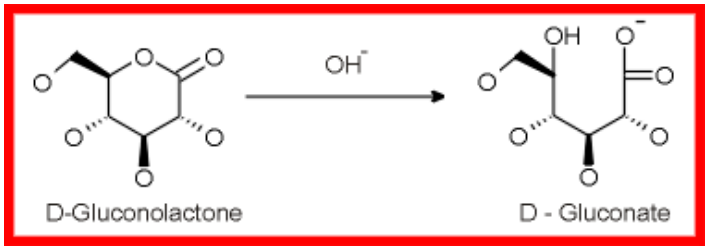
↓

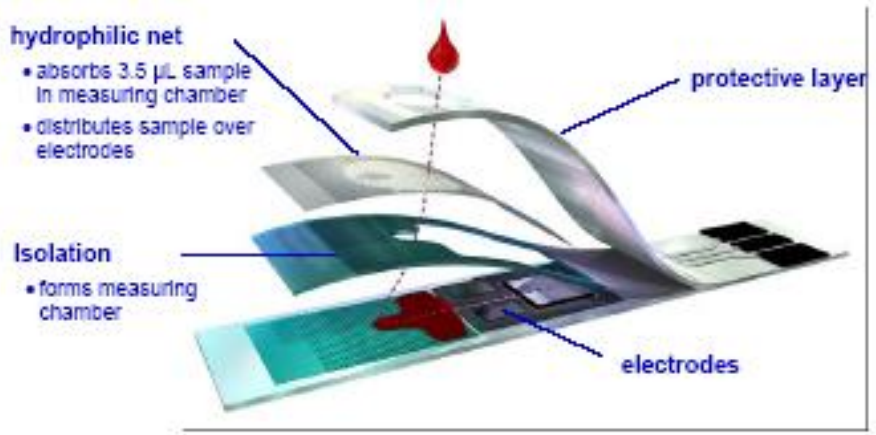
Glucose → **Gluconat**

Glucose – Oxidase

Ascensia ELITE XL
Der Klassiker im XL-Format.
Alles Wesentliche im Blick.
· Großes Display
· Ohne Codieren*:
Ausschluß einer Fehlerquelle
· Übersichtlich, praktisch
und handlich
· 60g leicht
92
Ascensia ELITE XL
*Seit Mai 1998 sind alle Ascensia ELITE Glucose-Messgeräte auf eine bestimmte Sensoren-Charge (Code F-5) voreingestellt. Da in Deutschland nur diese Sensoren-Charge erhältlich ist, funktioniert Ascensia ELITE XL ohne Codieren
360°
Animierte Bedienungsanleitung
Ascensia AUTODISC







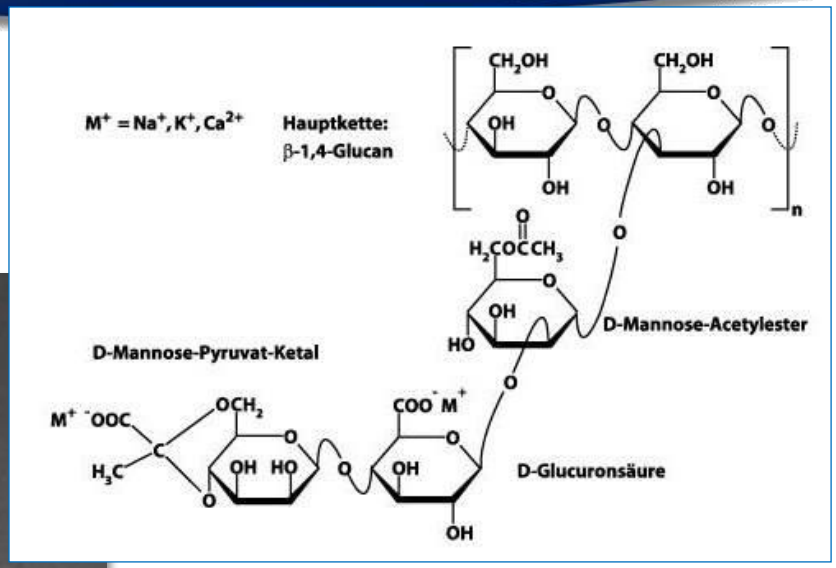


Tabelle 3.45. Anwendungen von Xanthan (als Zusatzstoff)

Nahrungsmittel

- Salatdressings
- Sirup und Schokoladensaucen
- Desserts
- Getränke
- Schlagsahne
- Mehlteige und Backmischungen
- kalorienreduzierte Nahrungsmittel

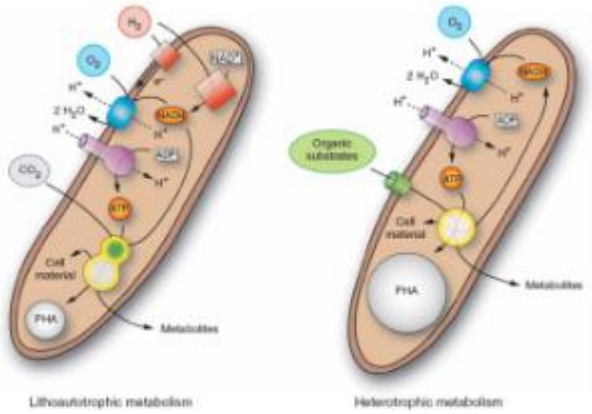
Kosmetika

- Zahnpasta
- Salben

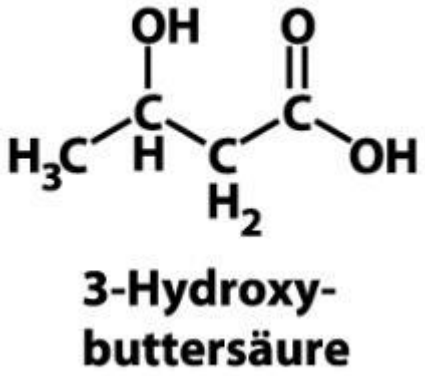
Andere technische Anwendungen

- Erdölförderung
- Reinigungsmittel
- Farben und Druckertinten
- Klebstoffe

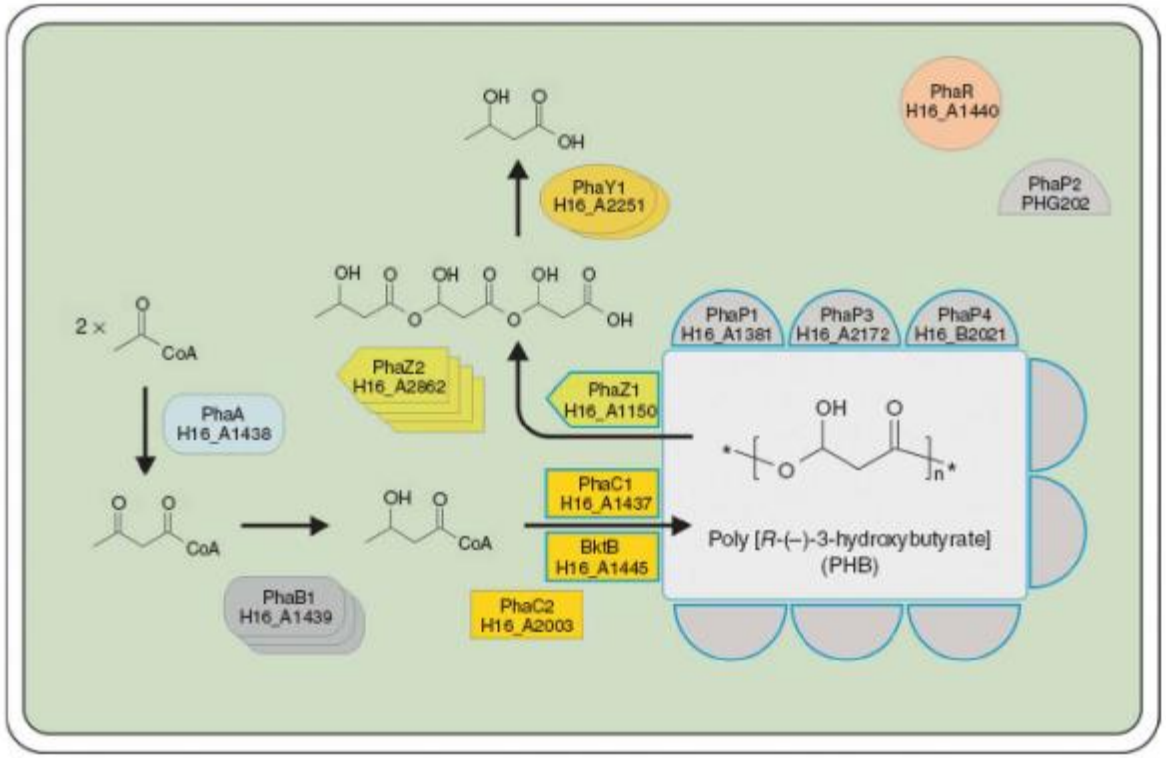
Xanthan aus *Xanthomonas campestris* als Dickungsmittel in diversen Produkten



Ralstonia eutropha
Produzent von PHB; alternativem ‚Plastik'



3-Hydroxy-buttersäure

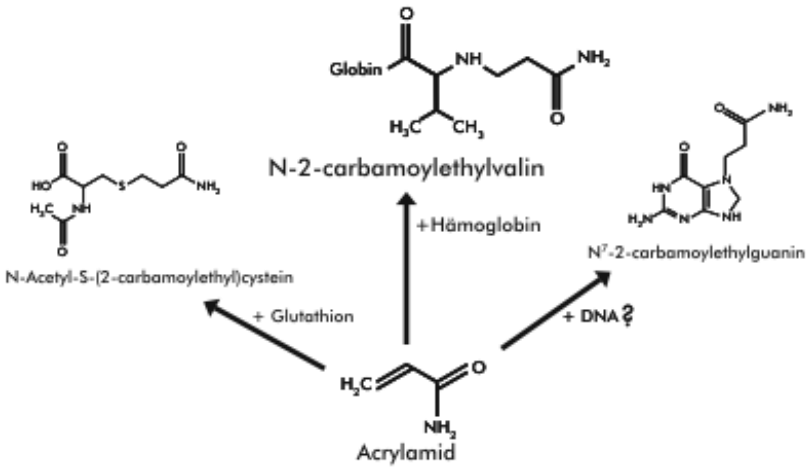


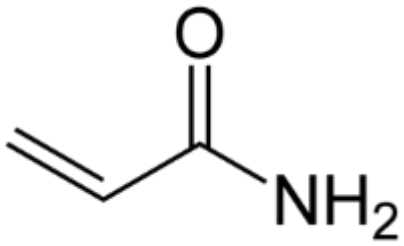
PHB

Celluloseactetat

PLA

Produkte aus PHB, PLA oder CA

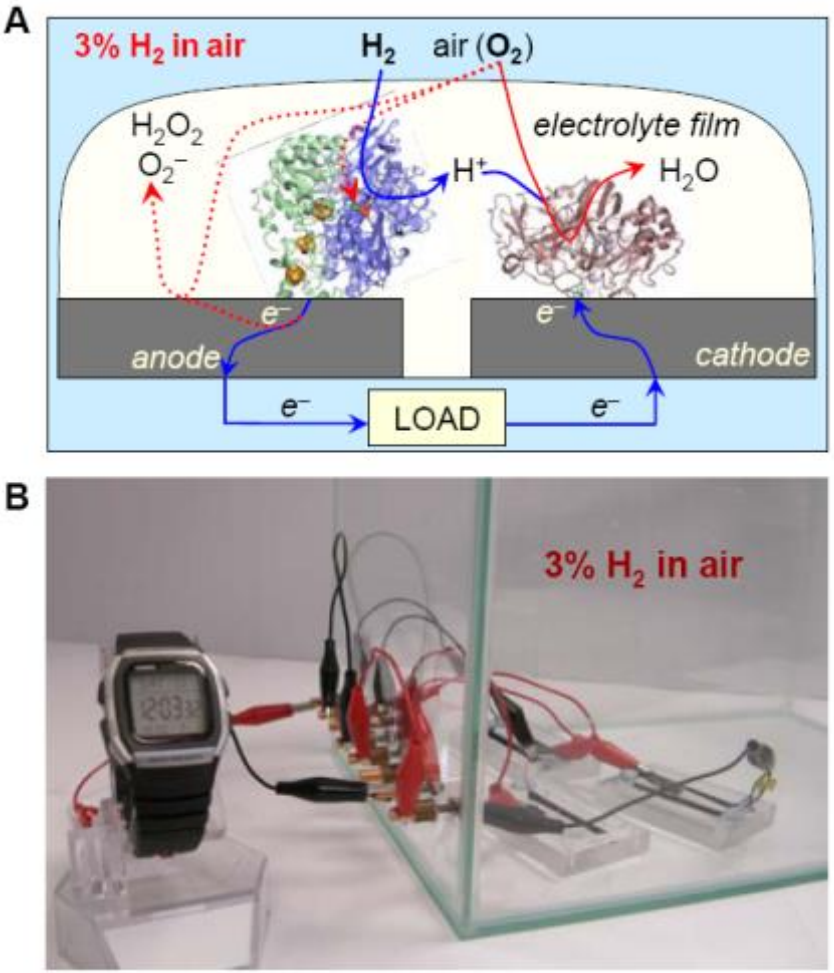




DSM
BRIGHT SCIENCE. BRIGHTER LIVING.

Acrylamid entsteht bei hohen Temperaturen spontan aus Aminosäuren, Stärke etc..
Pommes, Knäckebrot, Rote Beete etc...
Acrylamid reagiert mit Hämoglobin, Glutathion und anderen Molekülen des Körpers.

Eine mögliche Lösung:
PreventASe® ist eine Aspariginase aus *Aspergillus niger*



H2-Verwendung für Fuel-Cells

- Hydrogenasen

Milchprodukte

Cheddar, Cottage: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* und *cremoris*

Blauschimmelkäse: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* und *cremoris (plus Penicillum roqueforti)*

Mozzarella : *Streptococcus thermophilus*
L. Delbreckii subsp. bulgaricus
L. helveticus

Schweizer Käse: *Streptococcus thermophilus* und später *Propionbacterium*
L. delbrueckii subsp. bulgaricus freudenreichii subsp. *shermanii*
L. helveticus

Joghurt: *Streptococcus thermophilus*
L. delbrueckii subsp. bulgaricus

Buttermilch: *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* plus *Leuconostoc.* sp.
Lactococcus lactis subsp. lactis Cit + *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*

Sour cream: *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*
Lactococcus lactis subsp. *lactis*

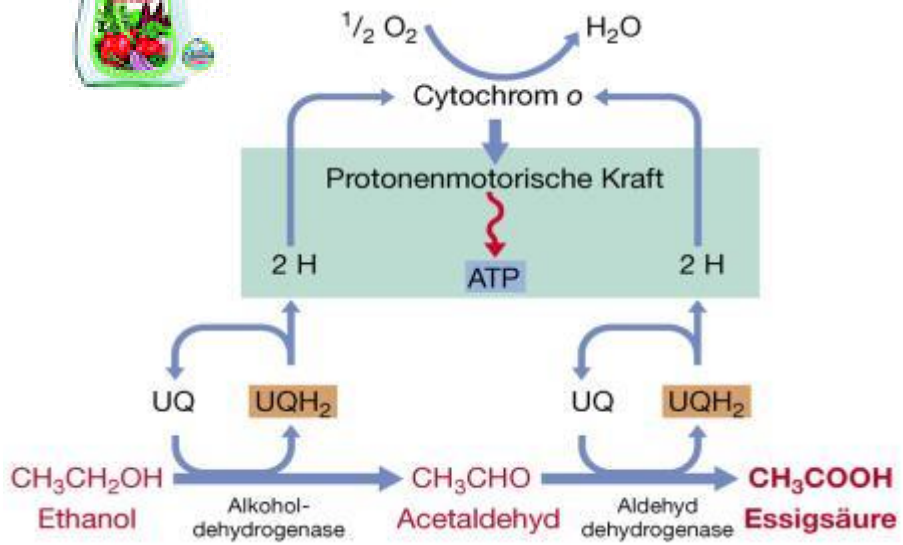
Sausages:

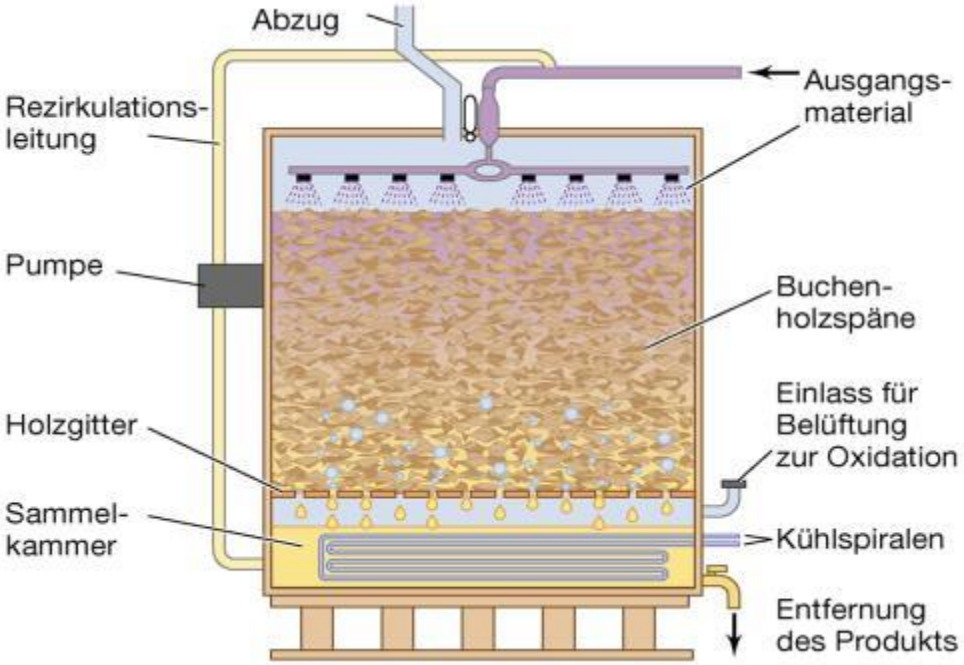
Pediococcus cerevisiae
Lactobacillus plantarum
Micrococcus plantarum

(Many times mixtures of any of the three)

Pulque: made from Agave;
Lactobacillus sp., Zymomonas sp. and Saccaromyces sp.

Single distilled it often ends up with a worm in bottles:



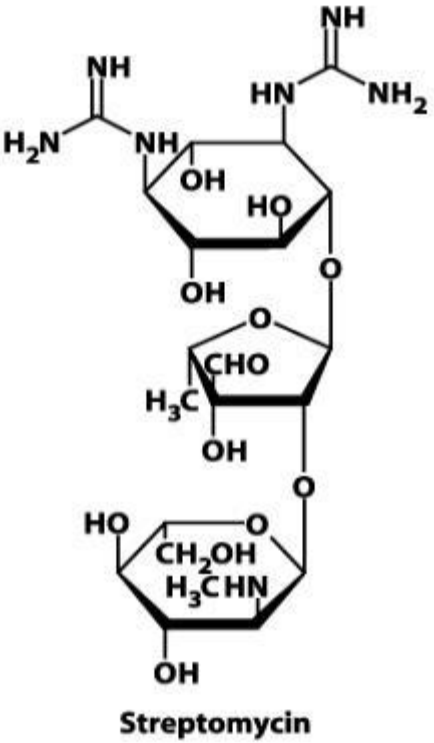


Die Chemie der Essigherstellung

Oxidation von Ethanol zu Essigsäure, der Schlüsselprozess bei der Essigherstellung durch *Gluconobacter oxydans* und *Gluconacetobacter europaeus*

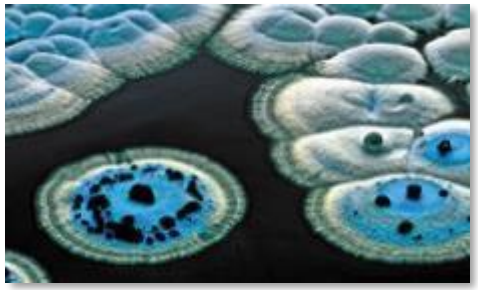
Andere Essighersteller: *Gluconacetobacter hansenii, Gluconacetobacter xylinus, Acetobacter pasteurianus, Acetobacter aceti,* und *Acetobacter malorum*

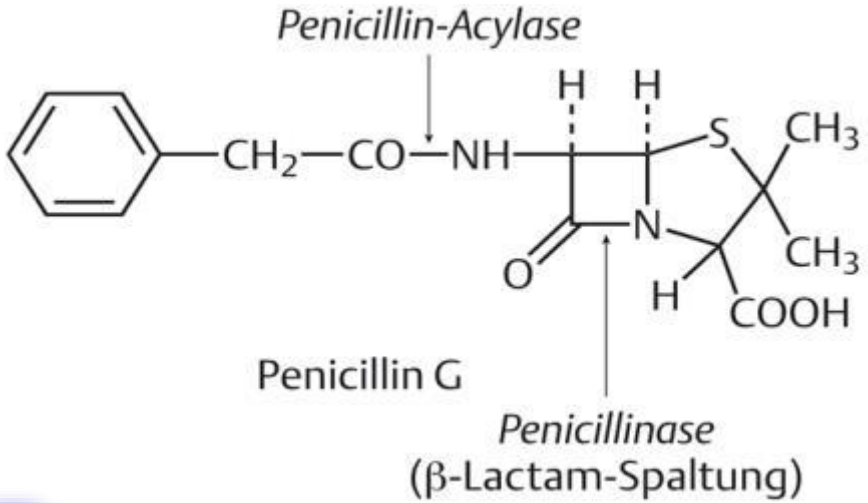
Entdeckung, Beschreibung von **Streptomycin** 1944
Forschung an Actinomyceten und Streptomyceten

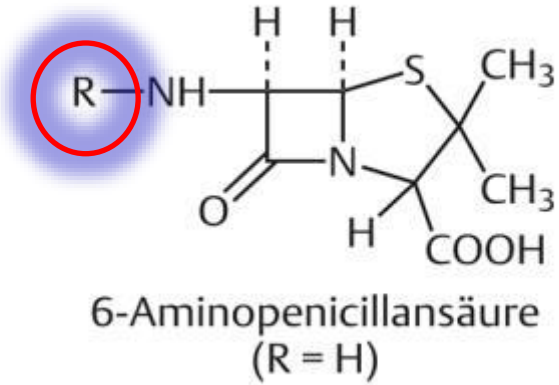


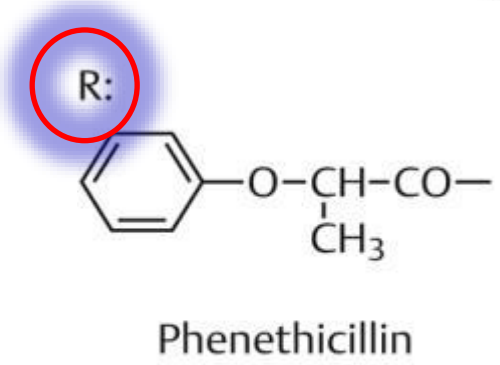
Streptomycin

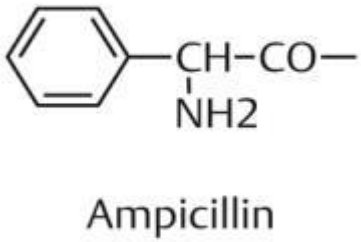
Selman A. Waksman (1888-1973)
Nobelpreis für Medizin 1953

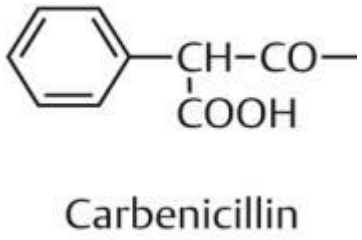








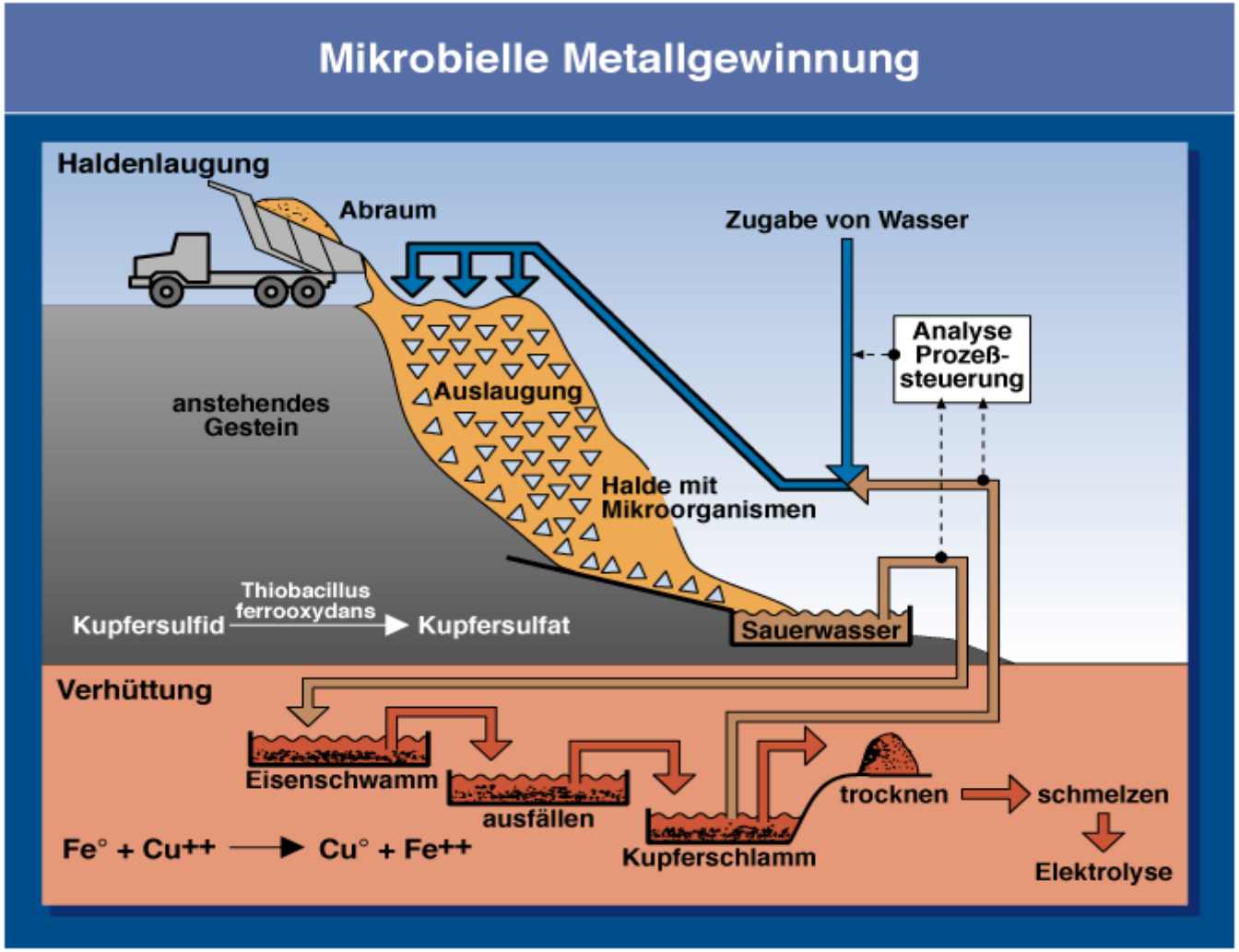




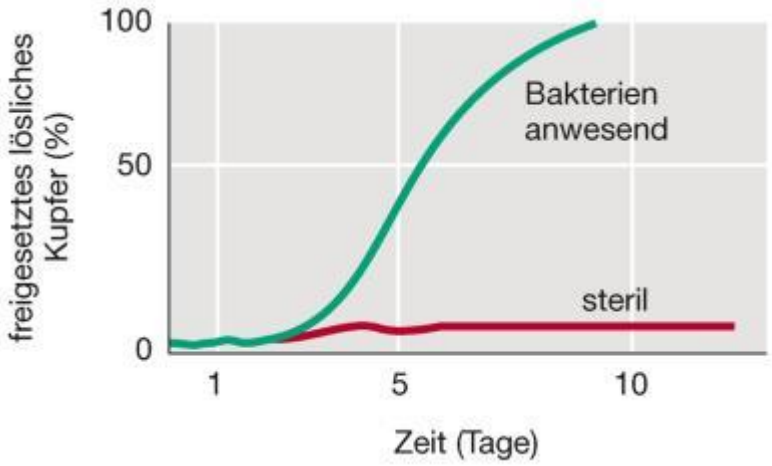
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
Fuchs et al.: Allgemeine Mikrobiologie, 8. Auflage · 2006

Wirkstoffforschung; Antibiotika, Anti-Tumor ist ein wichtiges Feld der Biotechnologie
Problem: vom Wirkstoff zum zugelassenen Produkt > 14 Jahre und $$$$$$$$$

Einige Schritte dazu sind:
- Targetscreening
- Wirkstoffscreening
- Toxizitätstests
- Biologische-halb-Synthetische Herstellung etc.
- Klinische Studien Phase 1,2,3


Mikrobielle Metallgewinnung
Haldenlaugung
Abraum
Zugabe von Wasser
Analyse
Prozeß-
steuerung
anstehendes
Gestein
Auslaugung
Halde mit
Mikroorganismen
Thiobacillus
ferrooxydans
Kupfersulfid
Kupfersulfat
Sauerwasser
Verhüttung
Eisenschwamm
ausfällen
trocknen
schmelzen
Fe° + Cu++
Cu° + Fe++
Kupferschlamm
Elektrolyse

Saurer Bergwerksabfluss aus einer bituminösen Kohleregion
Man beachte die gelblich-rote Färbung durch ausgefällte Eisenoxide



Wirkung des Bakteriums ***Acidithiobacillus ferrooxidans*** auf die Auslaugung des Kupfers aus dem Mineral Kupferkies („Covellit“, CuS)

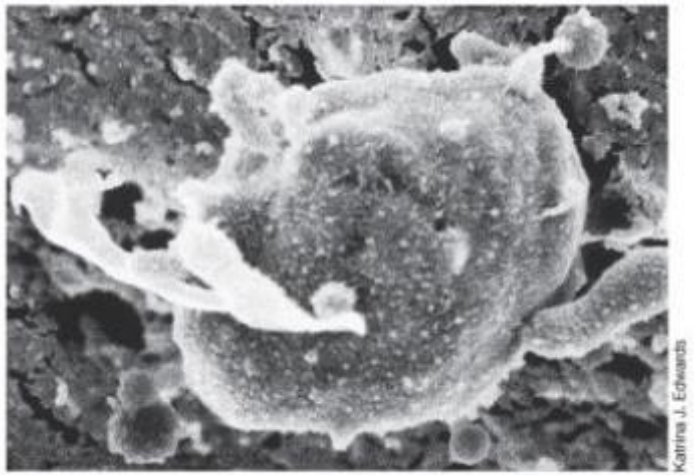
Bioleaching

Vermutlich erzeugen *Thiobacillus ferrooxidans* und ähnliche Bakterien durch Fe^{2+}-Oxidation zunächst moderat saure Verhältnisse.
Dann werden Archaeen wie *Ferroplasma acidarmanus* aktiv und sorgen für extrem niedrige pH-Werte; *Ferroplasma acidarmanus* wächst optimal um pH 1 !

Wichtige Reaktionen bei „Leaching“ – Prozessen:

$$2\,FeS_2 + 2\,H_2O + 7\,O_2 \rightarrow 2\,Fe^{2+} + 4\,SO_4^{2-} + 4\,H^+$$
$$4\,Fe^{2+} + O_2 + 4\,H^+ \rightarrow 4\,Fe^{3+} + 2\,H_2O$$
$$2\,Fe^{3+} + FeS_2 \rightarrow 3\,Fe^{3+} + 2\,S^0$$
$$2\,S^0 + 3\,O_2 + 2\,H_2O \rightarrow 2\,SO_4^{2-} + 4\,H^+$$
$$4\,Fe^{3+} + CuS \rightarrow 4\,Fe^{2+} + 2\,Cu^{2+} + S^0$$

(a)



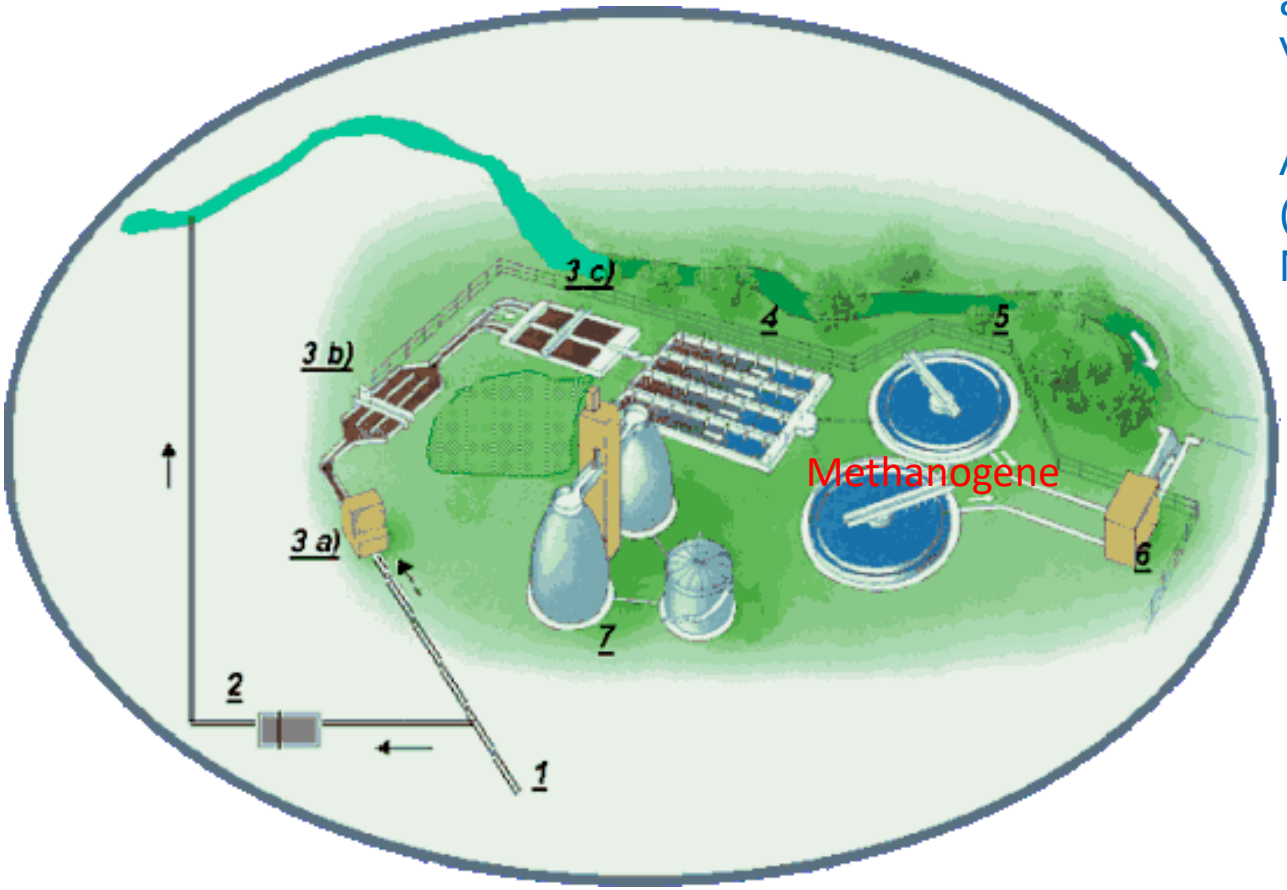
(b)

Ferroplasma acidarmanus
ein extrem acidophiles, Eisen oxidierendes Archaeon, das für eine schwerwiegende Ansäuerung von Grubendrainagesystemen verantwortlich ist

(a) Ströme von *Ferroplasma*-Zellen, die in einem sehr sauren (pH = 0) Abfluss eines Bergwerks in Iron Mountain leben (Kalifornien, USA)

(b) Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Zelle von *F. acidarmanus* in mineralischer Substanz

Wie funktioniert eine Kläranlage ?



Belebtschlammbecken

aerobe Oxidation von vielen Verbindungen

Ammoniakoxidierer
(Nitrifikation)
Nitrifizierer
-Endprodukt Nitrat

Industrielle Herstellung von Hefezellen